Vestnik zoologii, **34**(4–5): 9–15, 2000

УДК 576.893.195

LOMA MUGILI SP. N. — НОВАЯ МИКРОСПОРИДИЯ ИЗ ЖАБЕР ПИЛЕНГАСА (*MUGIL SOIUY*)

Н. А. Овчаренко[1], В. Л. Сарабеев[2], И. Вита[3], У. Чаплинска[3]

[1] *Институт гидробиологии НАН Украины, ул. Героев Сталинграда, 12, Киев, 04210 Украина*
[2] *Запорожский университет, ул. Жуковского, 66, Запорожье, 69600 Украина*
[3] *W. Stefański Institut of Parasitology, Polish Academy of Sciences, 51/55 Twarda st., Warsaw, 00-818 Poland*

Получено 7 марта 2000

***Loma mugili* sp. n. — новая микроспоридия из жабер пиленгаса (*Mugil soiuy*). Овчаренко Н. А., Сарабеев В. Л., Вита И., Чаплинска У.** — На основании данных световой и электронной микроскопии описан новый вид микроспоридий, поражающий клетки жаберного эпителия пиленгаса в Молочном лимане Азовского моря. Удлиненно-овальные споры паразита размерами (3,48±0,41)x(2,18±0,28) мкм, имеют тонкую эндоспору, пластинчато-везикулярный поляропласт и заднюю вакуоль с губчатой постеросомой. Изофилярная полярная трубка уложена в спираль из 14–15 колец.

Ключевые слова: микроспоридии, *Loma mugili* sp. n., ультраструктура, *Mugil soiuy*.

***Loma mugili* sp. n., a New Microsporidium from the Gills of Grey Mullet (*Mugil soiuy*). Ovcharenko N. O., Sarabeev V. L., Wita I., Czaplińska U.** — The new species of the microsporidia from the gills of *Mugil sojuy* (Osteichthyes, Mugilidae) based of light and ultrastructural data is described in the liman Molochny of the Azov Sea. Elongate ovoid spores measuring (3.48±0.41)x(2.18±0.28) mkm. Thin endospore, bipartite lamellate-vesiculate polaroplast and large posterior vacuole with spongious posterosome are characteristic features of the species. Polar filament isofilar, 14–15 coiled.

Key words: Microspora, *Loma mugili* sp. n., ultrastructure, *Mugil soiuy*.

Введение

К настоящему времени описано более тысячи видов микроспоридий, паразитирующих в клетках различных тканей хозяев практически всех типов животного царства. Только из рыб описано около 100 видов. В сентябре–октябре 1996 г. в Молочном лимане зарегистрирована массовая гибель сеголеток пиленгаса, в жаберных кровеносных сосудах которых обнаружены цисты со спорами микроспоридий *Glugea* sp. (Мальцев, 1999). Мелкие круглые цисты со слабо рефрактивными спорами регистрировались нами в жабрах 5–13-месячной молоди пиленгаса во время паразитологических обследований в 1998 и 1999 гг. Исследованные 334 особи рыб были заражены паразитом на 4,5% с интенсивностью инвазии 1–36 (9,7±9,2) цист и индексом обилия 0,39±1,9 цист. Проведенный анализ ультраструктуры дал основание уточнить систематическую принадлежность данных микроспоридий. Описание деталей их ультратонкого строения легло в основу настоящего сообщения.

Материал и методы

Материалом для исследований послужили сборы 1998 г. Препараты живых спор готовили согласно методике, описанной В. Н. Ворониным и И. В. Исси (1974). Морфометрические показатели спор определяли с помощью окуляр-микрометра (50 промеров), используя иммерсионные системы и максимальное увеличение микроскопа. Для исследования ультраструктуры отпрепарированные цисты помещали в 2,5%-ный раствор глутаральдегида, приготовленный на какодилатном буффере (Vávra, Maddox, 1976). Дальнейшая обработка материала проведена в Институте паразитологии ПАН в Варшаве (Польша). После промывки в какодилатном буффере, и полуторачасовой постфиксации в насыщенном растворе тетраоксида осмия при температуре +4°C материал подвергали заливке в эпоксидные смолы (Vávra, Maddox, 1976). Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме фирмы LKB. После контрастирования цитратом свинца по Рейнольдсу и уранилацетатом срезы просматривали под электронным микроскопом JEM 100, используя ускоряющее напряжение 80 кВ. Расшифровка электронограмм проводилась в Институте гидробиологии НАН Украины.

Результаты исследований

Хозяин: *Mugil soiuy* (Osteichthyes, Mugilidae)

Локализация: эндотелиальные клетки жаберных лепестков. Паразитирование микроспоридий сопровождается образованием цистоподобных ксеном диаметром около 350 мкм. Стенки ксеном имеют аморфную, тонкогрануллярную структуру, представленную 1–2 слоями с утолщениями (рис. 2). Внутри ксеномы находится гипертрофированное ядро клетки хозяина, споры и паразиты на разных стадиях развития.

Мерогония: неизвестна.

Спорогония закрытого типа происходит внутри паразитофорной вакуоли (рис. 1–4). Точное количество спор, формирующихся в процессе спорогонии, установить трудно. Часто внутри тонкой нестойкой оболочки находится одна спора, иногда несколько спор или поздних споробластов. Эписпоронтальная полость содержит многочисленные микротрубочки (рис. 2).

Ранний двуядерный споронт округлой формы содержит 2 одиночных ядра и цитоплазму со слабо развитой эндоплазматической сетью (рис. 1). Одноядерные споробласты имеют волнистую поверхность и цитоплазму, заполненную формирующимися органоидами споры (рис. 4). Их размеры составляют 2,9х1,7 мкм с ядрами диаметром 0,7 мкм.

Споры: одноядерные, тонкостенные, удлиненноовальные. Размеры живых спор

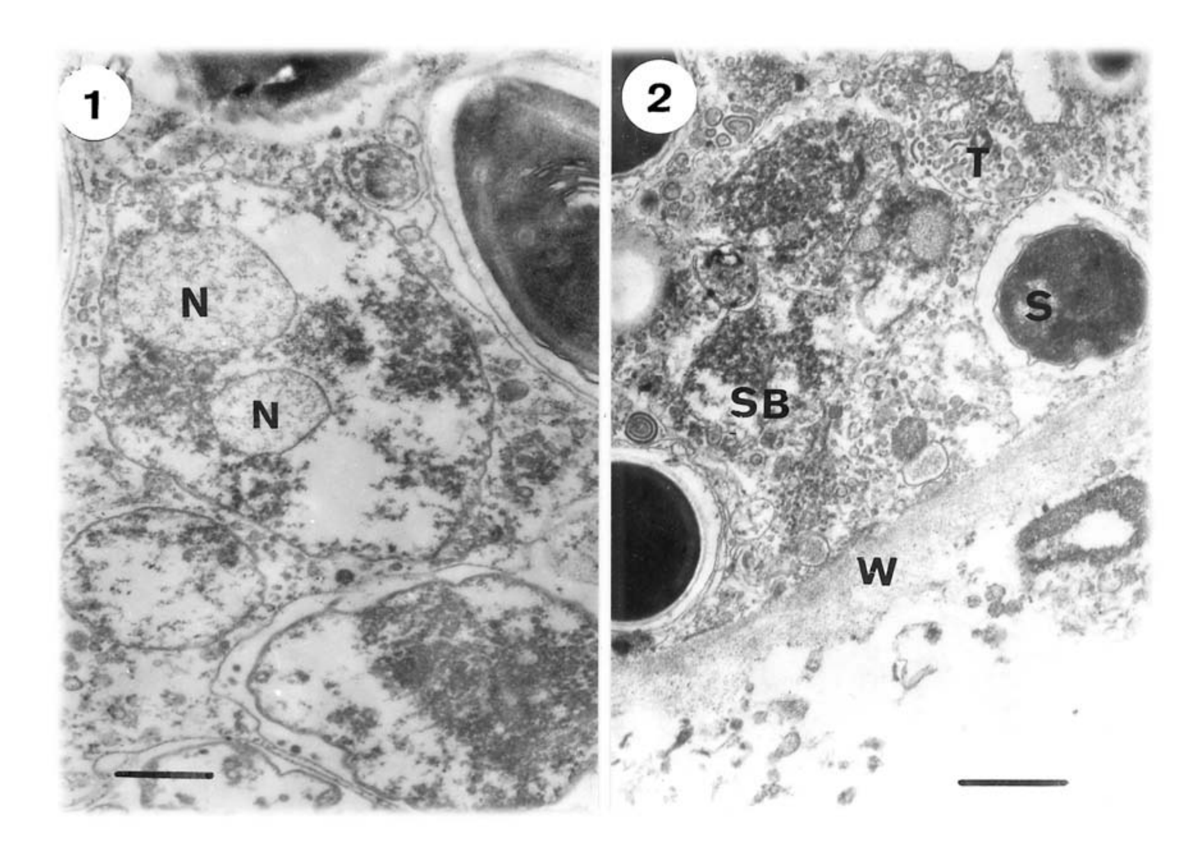


Рис. 1–2. 1 — Ранняя стадия развития паразита с двумя изолированными ядрами (N). Масштаб — 1,1 мкм. 2 — Поперечный срез цисты, наполненной спорами (S) и стадиями развития (SB) паразита. Внутри эписпоронтальной полости находятся трубчатые включения (T). Стенка (W) цисты состоит из 1–2 слоев. Масштаб — 0,9 мкм.

Fig. 1–2. 1 — The early developmental stadium with two isolated nuclei (N). Scale — 1,1 μm. 2 — Transversely sectioned cyst with the spores (S), and developmental stages (SB) of parasite. The episporontal space contains tubular inclusions (T). The cyst wall is composed of 1–2 layers. Scale — 0,9 μm.

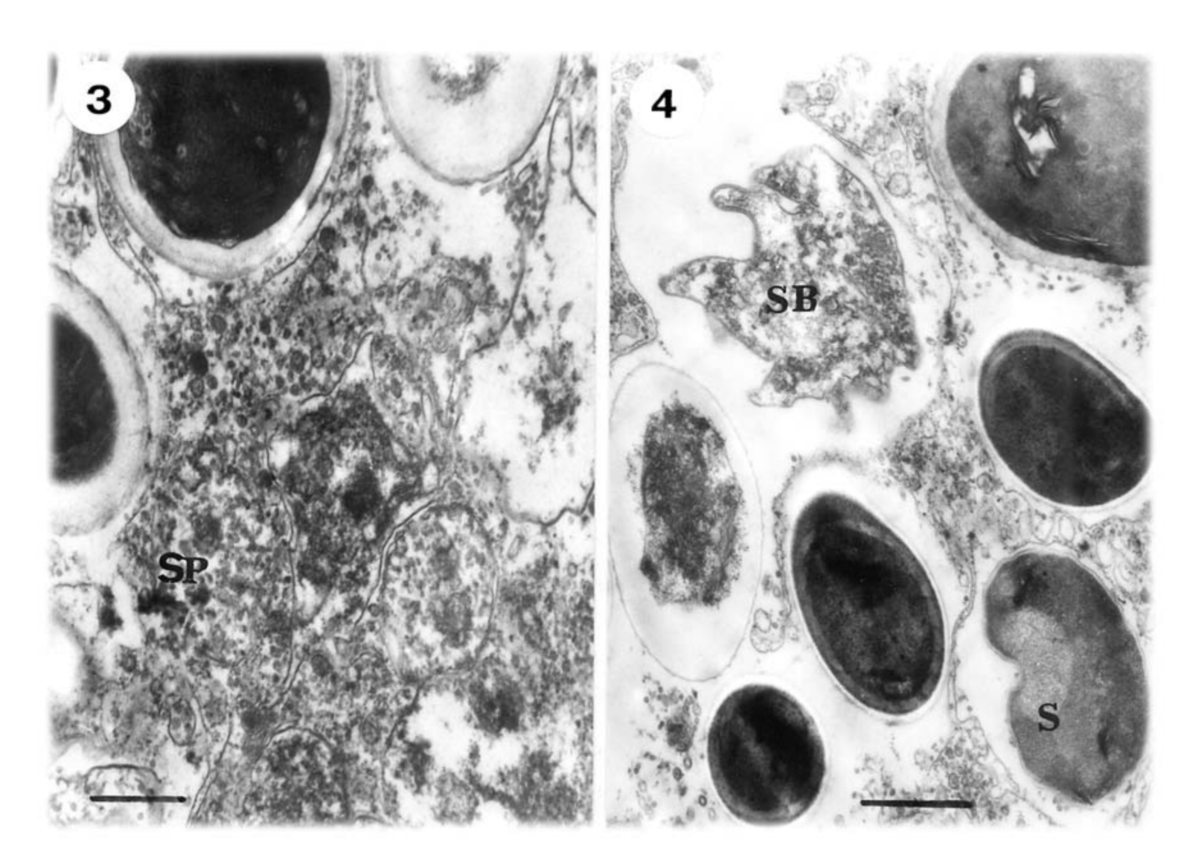


Рис. 3—4. 3 — Спорогональный плазмодий (SP) в фазе почкования. Масштаб — 1,0 мкм. 4 — Одноядерные споробласты (SB) и споры (S) внутри паразитофорной вакуоли. Масштаб — 1,1 мкм.

Fig. 3—4. 3 — The early sporogonial plasmodium (SP) during the budding stage. Scale — 1,0 μm. 4 — The mononucleate sporoblasts (SB) and spores (S) inside of parasitophorous vacuole. Scale — 1,1 μm.

составляют 2,7—4,1(3,48±0,41)х1,7—3,0(2,18±0,28) мкм; фиксированных в глутаральдегиде — 2,7х1,5 мкм. Экзоспора однослойная, толщиной 18—19 нм; толщина эндоспоры составляет 36—43 нм (рис. 7). Поляропласт состоит из 2 частей (рис. 5—7). Передняя его часть представлена зоной уплощенных пластин, которая охватывает этот органоид извне. Толщина этой зоны составляет 240—270 нм. Несколько пластин внутренней части пластинчатой зоны поляропласта заметно шире остальных (рис. 5, 7). Внутренняя зона поляропласта представлена уплощенными цистернами, охватывающими манубриальную часть полярной трубки (рис. 5, 6). На электронограммах эта часть поляропласта обычно плохо различима, поскольку маскируется его внешними слоями. Общая длина поляропласта составляет 1,2—1,4 мкм. Полярная трубка изофиллярная, диаметром 103—120 нм, свернутая в спираль из 14—15 витков (рис. 5, 8). На одной электронограмме один из витков полярного филамента расположен вне монослоя, а последний виток заходит внутрь задней вакуоли (рис. 8). Задняя вакуоль занимает около половины объема споры и отграничена от спороплазмы хорошо заметной простой мембраной (рис. 8). Ее полость содержит крупную постеросому, имеющую губчатую структуру.

Обсуждение результатов

Согласно системе Спрега, Бекнела и Хазарда, тип Microspora Sprague, 1969 включает в себя 2 класса — Dihaplophasea и Haplophasea (Sprague, Becnel and Hazard, 1992). Отсутствие диплокарионов и одноядерный предположительно гаплокариотический тип развития являются признаками класса Haplophasea Sprague, Becnel, Hazard,

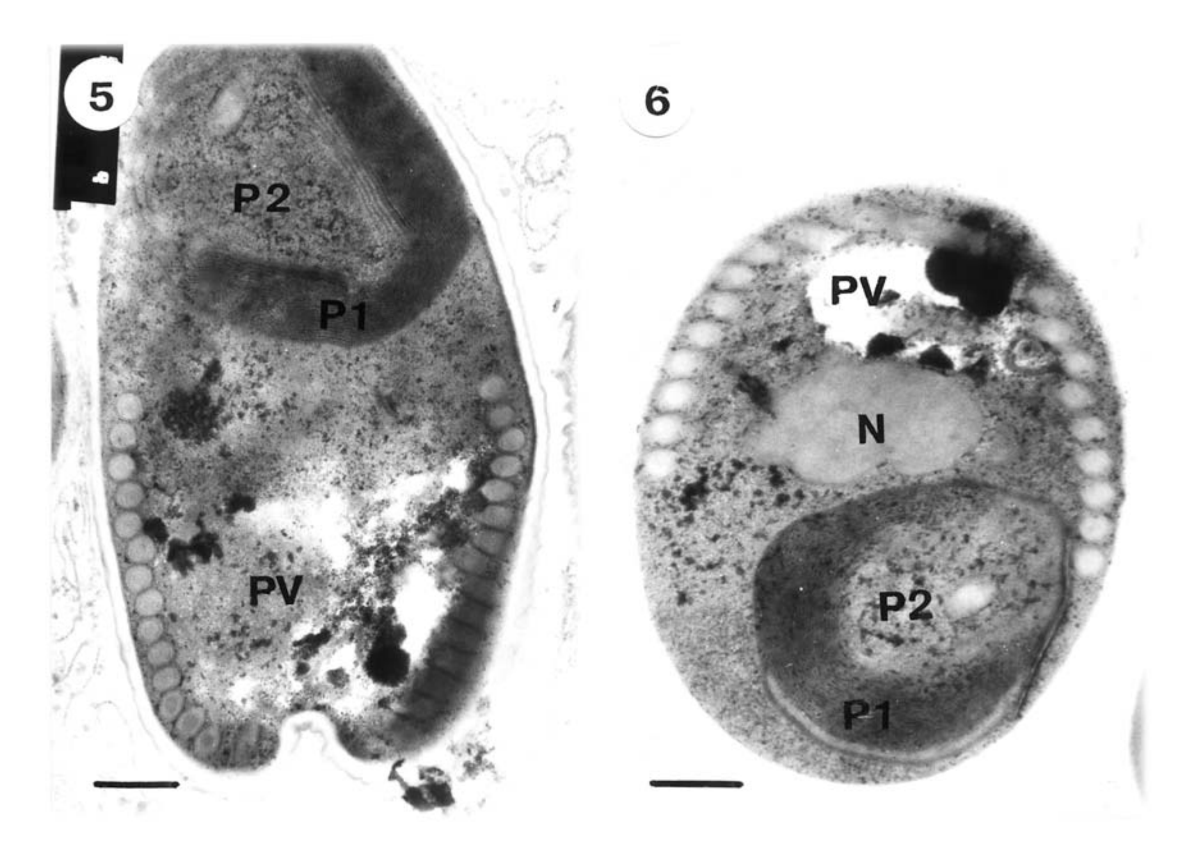


Рис. 5—6. 5 — Косой продольный срез зрелой споры. Поляропласт состоит из пластинчастой (P1), и везикулярной (P2) зон. Полярный филамент образует спираль из 14—15 витков, расположенных в один слой вокруг задней вакуоли (PV). Масштаб — 0,8 мкм. 6 — Косой поперечный срез зрелой споры с ядром (N), поляропластом (P1, P2) и задней вакуолью (PV). Масштаб — 0,8 мкм.

Fig. 5—6. 5 — The longitudinal section of the mature spore. The polaroplast is composed of lamellate (P1) and vesiculate (P2) parts. The coiled with 14—15 turns polar filament is arranged into one layer surrounding the posterior vacuole (PV). Scale — 0,8 μm. 6 — The nucleus (N), the polaroplast (P1, P2), and the posterior vacuole (PV) are shown. Scale — 0,8 μm.

1992. Полиспоровая спорогония закрытого типа и формирование ксеном характерны для представителей семейства Glugeidae Thelohan, 1892. Указанное семейство включает в себя 2 рода — *Glugea* Moniez, 1887 и *Loma* Morrison et Spraque, 1981. Представители обоих родов паразитируют у рыб. В отличие от микроспоридий рода *Glugea*, представители рода *Loma* продуцируют очень мелкие ксеномы, в центре которых располагается гипертрофированное ядро клетки хозяина (Lom, Pekkarinen, 1999) (рис. 2). Их тонкостенные споры имеют заднюю вакуоль, которая занимает больше половины обьема споры и содержит хорошо развитую постеросому (Morrison, Sprague, 1981 a, 1983; Shaw et al., 1997). Моррисон и Спрег определяют род как «апанспоробластический и одноядерно-диспоробластический» (Morrison, Sprague, 1981 a). Диспоробластия подтверждена для *L. diplodae* (Putz, Hoffman, Dunbar, 1965; Bekthi, Bouix, 1985), в то время как у *L. salmonae* Bekthi, Bouix, 1985 обнаружено 4 споробласта внутри спорогональной вакуоли (Morrison, Sprague, 1983). Точное количество делений споронтов нами не установлено, однако наличие двуядерных стадий с изолированными ядрами (рис. 3) является подтверждением его возможной диспоробластии. Вопрос апанспоробластичности микроспоридий рода *Loma* является дискуссионным. Большинство исследователей рассматривает тонкую мембрану, окружающую споробласты и споры, как паразитофорную вакуоль, в то время как другие склонны усматривать в них оболочку спорофорной везикулы (панспоробласта). Так, у микроспоридий *L. diplodae*, *L. camerounensis* Fomena, Coste et Bouix, 1992 и *L. boopsi* Faye, Toguebaye et Bouix, 1995

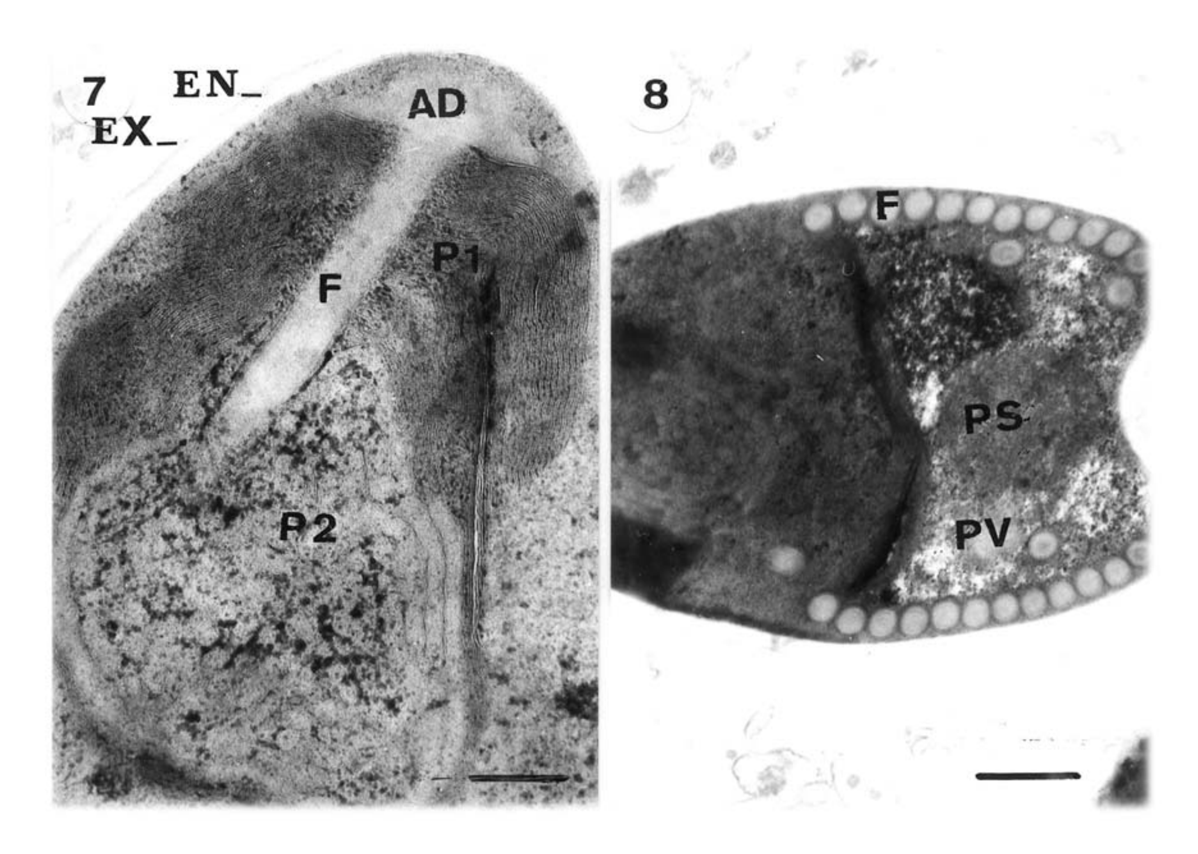


Рис. 7—8. 7 — Продольный срез передней части споры. Виден якорный диск (AD), полярный филамент (F) и поляропласт состоящий из пластинчатых (P1) и везикулярной (P2) зон. Стенка споры состоит из тонкой экзоспоры (EX) и электроннопрозрачной эндоспоры (EN). Масштаб — 0,8 мкм. 8 — Продольный срез задней части споры с задней вакуолью (PV), содержащей постеросому (PS). Масштаб — 0,8 мкм.

Fig. 7—8. 7 — The longitudinal section of anterior part of mature spore. The anchoring disc (AD), the isofilar polar filament (F) and polaroplast containing lamellar (P1) and vesicular (P2) parts are shown The spore wall is composed of the thin exospore (EX) and electron-lucent endospore (EN). Scale — 0,8 μm. 8 — The longitudinal sectioned posterior part of the mature spore. The posterior vacuole (PV) contains posterosome (PS). Scale — 0,8 μm.

доказана паразитарная природа формирования указанной вакуоли (Bekthi, Bouix, 1985; Faye, Toguebaye, Bouix, 1995; Fomena, Coste, Bouix, 1992), в то время как у *L. branchialis* (Neméczék, 1911) и *L. fontinalis* Morrison, Sprague, 1983 она имеет хозяинное происхождение (Morrison, Sprague, 1981 a, 1983). Эти и некоторые другие особенности легли в основу предположения о гетерогенности рода *Loma*. При этом к типичным представителям рода были отнесены микроспоридии *L. branchialis* (=*L. morhua*), *L. acerinae*, *L. fontinalis*, *L. salmonae* и возможно, *L. embiotocia* (Shaw et al., 1997). Виды *L. boopsi*, *L. camerounensis*, *L. dimorpha* Loubés et al., 1984 и *L. diplodae*, образующие спорофорную везикулу, обозначены как требующие уточнения систематического положения (Lom, Pekkarinen, 1999).

Обнаруженная нами микроспоридия образует скорее всего паразитофорную вакуоль и поэтому может быть отнесена к типичным представителям рода. Все виды рода *Loma* имеют пластинчатый поляропласт, состоящий из двух зон, однако только для *L. acerinae,* как и для микроспоридий из пиленгаса, доказана везикулярная природа задней его части. Учитывая труднодоступность этой зоны из-за высокой электронной плотности узкопластинчастой зоны поляропласта и возможной его неоднородности (узкие и несколько широких пластин), мы склонны предполагать, что везикулярная часть поляропласта у микроспоридий рода *Loma* имеет более широкое распространение, чем принято было считать. Парамуральные тела (сциндосомы), зарегистрированные у микроспоридий из пиленгаса, были описаны также у *L. boopsi* и *L. acerinae*

(Faye, Toguebaye, Bouix, 1995; Lom, Pekkarinen, 1999). К настоящему времени из рыб, принадлежащих к семействам Salmonidae, Gobiidae, Sparidae, Gadidae, Cichlidae Embiotocidae и Percidae, описано 9 видов микроспоридий, отнесенных к роду *Loma*. Типовый вид рода — *L. branchialis* (=*L. morhua*) — поражает жабры, а иногда и внутренние органы трески (*Gadus morhua* L.) и пикши (*Melanogrammus aeglefinus* (L.) (Morrison and Sprague, 1981 а, б). *L. fontinalis* обнаружена у американского гольца *Salvelinus fontinalis* в водоемах Канады (Morrison, Sprague, 1983). *L. salmonae* вызывает массовое заболевание с высокой смертностью среди лососевых (*Salmo gairdneri*, *Oncorhynchus mykiss*, *O. kisuth*., *O. nerca*, *O. tshawytscha*, *O. masou*) в Шотландии, Северной Америке, Японии, и Франции (Avakura, Tanaka, Yoshimiz, 1982; Morrison, Sprague, 1983; Bekthi, Bouix, 1985; Kent, Elliot, Groff, Hedrick, 1989; Bruno, Collins, Morrison, 1992). Из клеток кишечника бычковых рыб юга Франции описана *L. dimorpha* (Loubés, et al., 1984). У морских карасей побережья Франции и в Сенегале зарегистрированы *L. diplodae* и *L. boopsi* (Bekthi, Bouix, 1985; Faye, Toguebaye, Bouix, 1995). Жабры и другие внутренние органы ершей в водоемах Чехии и Финляндии инвазирует *L. acerinae* (=*Glugea acerinae*) (Jirovec, 1930; Lom, Pekkarinen, 1999). У живородок (*Cymastogaster aggregattus*) американского побережья описана *L. embiotocia* (Kent, Elliot, Groff, Hedrick, 1989), а у пресноводной цихлиды *Oreochromis niloticus* L. в Камеруне — *L. camerounensis* (Fomena, Coste, Bouix, 1992).

По размеру спор и количеству витков полярного филамента микроспоридии из пиленгаса весьма близки к *L. fontinalis*, но отличаются от последней строением поляропласта и приуроченностью к хозяевам из различных отрядов, ареалы которых не пересекаются. По строению поляропласта обнаруженные нами микроспоридии близки к *L. acerinae*. Споры последней крупнее (4,64x2,19 мкм), а полярный филамент имеет 11—23 (в среднем — 13,6) витков. Хозяева *L. acerinae* и микроспоридий из пиленгаса относятся к различным отрядам.

Таким образом, мы считаем достаточно обоснованным отнесение микроспоридий из пиленгаса к роду *Loma*. Сравнение с другими известными до настоящего времени видами этого рода позволяет считать изученный вид новым. От других представителей рода *Loma* микроспоридия из жабер пиленгаса отличается размерами и ультаструктурой спор, а также принадлежностью к хозяевам семейства кефалевых. Предлагаемое название вида указывает на приуроченность к хозяину рода *Mugil*. Препараты микроспоридий хранятся в коллекции авторов (Институт паразитологии ПАН, Варшава, Польша, Институт гидробиологии НАНУ, Киев, Украина). Электронограммы № 189875—190022 хранятся в коллекции Н. Овчаренко (Институт гидробиологии НАНУ).

Воронин В. Н., Исси И. В. О методиках работы с микроспоридиями // Паразитология. — 1974. — **8**, № 3. — С. 272—273.

Мальцев В. Н. Паразитарные и инфекционные болезни дальневосточного пиленгаса в Азовском море // Матеріали наук.-практ. конф. паразитологів (3—5 листопада 1999 р., Київ). — К. : Вид-во Нац. аграр. ун-ту, 1999. — С. 104—107.

Avakura T., Tanaka M., Yoshimiz M. Studies on parasites of masu salmon, Onchorhynchus masou IV. Loma sp. (Protozoa: Microspora) found in the gills // Sci. Rep. Hokkaido Fish Hatchery, Sapporo. — 1982. — **37**. — P. 49—55.

Bekthi M. Contribution a l'etude des microsporidioses des poissons des cotes mediterranйens: les genres Loma et Glugea, biologie et relations hote-parasite. — Montpellier : Thése, Univer. Sci. Techniq. du Languedoc, 1984. — P. 208.

Bekthi M., Bouix G. Loma salmonae (Putz, Hoffman et Dunbar, 1965) et Loma diplodae n. sp. microsporidies parasites de branchies de poissons tèléostéens: implantation et donneés ultrastructurales // Protistologica. — 1985. — **20**. — P. 47—59.

Bruno D. W., Collins R. O., Morrison C. M. The occurrence of Loma salmonae (Protozoa: Microspora) in farmed rainbow trout, Oncorhynchus mykiss Walbaum, in Scotland. Aquaculture. — 1995. — **133**, N 3—4. — P. 341—344.

Faye N., Toguebaye B. S., Bouix G. On the cytology and development of Loma boopsi sp. n. (Microspora, Glugeidae), parasite of Boops boops (Pisces, Teleostei, Sparidae) from the coasts of Senegal // Arch. Protistenkd. — 1995. — **146**. — P. 85—93.

Fomena A., Coste F., Bouix G. Loma camerounensis sp. nov. (Protozoa: Microsporida) a parasite of Oreochromis niloticus Linnaeus, 1757 (Teleost: Cichlidae) in fish-rearing ponds in Melen, Yaounde, Cameroon // Parasitol. Res. — 1992. — **78.** — P. 201–208.

Jirovec O. Ueber eine neue Microsporidienart (Glugea acerinae n. sp.) aus Acerina cernua // Arch. Protistenkd. — 1930. — **72**. — P. 198–213.

Lom J., Pekkarinen M. Ultrastructural observations on Loma acerinae (Jirovec, 1930) comb. nov. (Phylum Microsporidia) // Acta Protozool. — 1999. — **38**. — 61–74.

Loubés C., Maurand J., Gasc C. et al. Etude ultrastructurale de Loma dimorpha n. sp., Microdporidie parasite de Poissons Gobiidae Languedociens // Protistologica. — 1984. — **20**. — P. 579–589.

Morrison C. M., Sprague V. Electron microscopical study of a new genus and new species of microsporidia in the gills of atlantic cod Gadus morhua L. // J. Fish Dis. — 1981. — **4**. — P. 15–32.

Morrison C. M., Sprague V. Light and electreon microscope study of microsporidia in the gills of haddock, Melanogrammus aeglefinus (L.) // J. Fish Dis. — 1981. — **4**. — P. 179–184.

Morrison C. M., Sprague V. Loma salmonae (Putz, Hoffman and Dunbar, 1965) in the rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson, and Loma fontinalis sp. nov. (Microsporida) in the brook trout, Salvelinus fontinalis (Mitchill) // J. Fish Dis. — 1983. — **6**. — P. 345–353.

Shaw R. W., Kent M. L., Docker M. F. et al. A new species of Loma (Microsporea) in shiner perch (Cymastogaster aggregata) // J. Parasitol. — 1997. — **83**. — P. 296–301.

Sprague V., Becnel J. J., Hazard E. I. Taxonomy of phylum Microspora // Critical Reviews in Microbiology. — 1992. — **18**. — P. 285–395.

Vávra J., Maddox J. V. Methods in Microsporidiology // Comparative Pathobiology. — New York ; London : Plenum Press, 1976. — **1**. — P. 281–319.